

白血病細胞のAra-C耐性獲得におけるinsulinlike growth factor I の関与

著者	阿部 正理
号	2287
発行年	2006
URL	http://hdl.handle.net/10097/22903

氏 名（本籍） あ阿 べ部 しょう正 り理

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学位記番号 医博第 2287 号

学位授与年月日 平成 18 年 3 月 24 日

学位授与の条件 学位規則第4条第1項該当

研 究 科 専 攻 東北大学大学院医学系研究科
 (博士課程) 医科学専攻

学位論文題目 白血病細胞の Ara-C 耐性獲得における insulin-like growth factor I の関与

(主 查)

論文審査委員 教授 佐々木 毅 教授 賀 来 満 夫

教授 土 屋 滋 教授 海 野 倫 明

論文内容要旨

目 的

白血病細胞の Ara-C に対する薬剤耐性機序に関与する遺伝子を同定する。

方 法

cDNA マイクロアレイ法を用い、Ara-C 耐性 K 562 (K 562/AC) 細胞と Ara-C 感受性 K 562 細胞における遺伝子発現を比較した。

結 果

1. cDNA マイクロアレイ法では7個の遺伝子に発現差が認められた。RT-PCR を行ったところ insulin-like growth factor I (IGF-I) の発現が、感受性細胞に比べて耐性細胞で増強しており、定量 PCR においても約3倍発現が増加していた。
2. Ara-C 感受性 K 562 細胞に IGF-I を加えたところ、Ara-C によるアポトーシスを抑制した。
3. IGF-I 等の成長因子阻害剤である suramin を添加したところ、K 562/AC 細胞において増殖阻害、アポトーシス増強効果が認められた。
4. IGF-I 受容体中和抗体を添加しても K 562/AC 細胞において増殖阻害、アポトーシス増強効果が認められた。
5. phosphoinositide 3-kinase (PI3K), Akt は IGF-I 受容体のシグナル伝達経路の下流であるが、K 562/AC 細胞において Akt のリン酸化が亢進していた。PI3K の特異的阻害剤 LY 294002 を加えたところ、K 562/AC 細胞において Akt のリン酸化が阻害され、増殖阻害、アポトーシス増加作用が認められた。
6. AML 患者 27 例の骨髓検体において IGF-I の発現を検討したところ、Ara-C を含む化学療法後の不応、再発症例において初発時より IGF-I の発現量が有意に増加していた。

結 論

K 562/AC 細胞の Ara-C 耐性化機序の一つとして、IGF-I, IGF-I 受容体, PI3K/Akt 経路の活性化が考えられ、IGF-I シグナル伝達系の阻害が、白血病における Ara-C 耐性の克服のための有用なアプローチになり得ると考えられた。

審 査 結 果 の 要 旨

これまでに新規の抗がん剤の開発や化学療法のプロトコルの改良により、急性骨髄性白血病（AML）の治癒率は向上してきたものの、化学療法のみでは AML の無病生存率は約 30-40%にとどまっている。この原因の一つとして白血病細胞の抗がん剤に対する多剤耐性が考えられている。AML に対する治療において第一選択薬はヌクレオシド系代謝拮抗剤である 1- β -D-arabino-furanosylcytosine（Ara-C）である。Ara-C 耐性に対しては様々な機序が動物モデルや *in vitro* 系で示されてきたが、これらの耐性機序が AML 患者における Ara-C 耐性と明らかに相関していることを証明したデータは少なく、他の耐性機序が存在することが示唆されている。そこで本研究では、Ara-C 耐性獲得機序を解明することを目的として、cDNA マイクロアレイ法にて Ara-C 感受性 K 562 細胞と Ara-C 耐性 K 562 細胞の間で遺伝子発現プロファイルの比較を行い、耐性に伴い発現が増強している遺伝子を同定した。その結果、IGF-I が耐性細胞において感受性細胞より有意に発現が増強している遺伝子として同定された。実際に IGF-I が細胞生物学的に Ara-C 耐性に関与しているかどうか明らかにするために *in vitro* での検討を行ったところ、IGF-I-IGF 受容体の抑制が Ara-C 耐性解除を誘導し、逆に IGF-I の添加が Ara-C 耐性の増強を導くことが示された。また細胞内シグナルについては PI3K の下流にあるセリン、スレオニンキナーゼ Akt が Ara-C 耐性細胞において活性化されていることが明らかとなり、IGF-I は PI3K-Akt 経路の活性を介してアポトーシス抑制に働き、Ara-C の耐性機序に機能していることが示唆された。また、臨床検体を用いた解析においても Ara-C を含む化学療法後の不応、再発症例において初発時より IGF-I の発現量が有意に増加していることが見出された。これらの *in vitro* および臨床検体の解析結果は、実際に IGF-I が autocrine もしくは paracrine のメカニズムで Ara-C 耐性獲得に関与していることを強く示唆しており、臨床的に Ara-C 耐性に対して IGF-I シグナル伝達経路を標的とした治療が有効であることを期待させる。従って、本研究は白血病治療における新たな分子標的療法の開発に結びつく臨床的に極めて貢献度の高い研究と考えられ、学位に値するものと判断した。